

Effets du fenamiphos sur les nématodes et la microflore du sol / C. Najm ; sous la direction de Dr R. Khoury. — Extrait de : Annales de recherche scientifique. — N° 5 (2004), pp. 221-231.

Bibliographie. Figures.

I. Nématodes du sol. II. Nématicides — Liban. III. Sols — Fertilité — Liban.

Khoury, R.

PER L1049 / FA193886P

EFFETS DU FÉNAMIPHOS SUR LES NÉMATODES ET LA MICROFLORE DU SOL

C. NAJM

*Université Saint-Esprit de Kaslik
Faculté des Sciences Agronomiques
B. P. 446 Jounieh, Liban*

Sous la direction de Dr R. KHOURY

*Institut de Recherches Agronomiques du Liban, Fanar
B. P. 90-1965 Jdeidet El-Metn, Liban*

RÉSUMÉ

Plusieurs types de nématodes phytoparasites existent au Liban, constituant un des problèmes sanitaires majeurs auquel fait face l'agriculteur. Le fénamiphos, nématicide organophosphoré et insecticide à large spectre est le plus utilisé au Liban. Nous avons évalué dans des biomètres clos au laboratoire, son aptitude dans le contrôle des nématodes et son effet sur l'activité respiratoire globale d'un sol sablo-argilo-limoneux pris de Mastita, Jbeil.

Les nématodes du sol ont été extraits par la méthode de l'entonnoir de Bærmann, qui s'est avérée pratique et efficace. Une méthode analytique d'extraction faisant appel à la chromatographie en phase gazeuse à détecteur thermoïonique spécifique a été mise au point pour la détermination des résidus de fénamiphos dans les sols.

Cette étude a démontré que le fénamiphos est efficace. Son action a été observée tout au long des 50 jours d'incubation. A partir du 39^{ème} jour, son action a diminué provoquant une augmentation du nombre de nématodes, cela suggère que le fénamiphos qui s'est transformé rapidement en nutriments pour les micro-organismes du sol, a été dégradé et a perdu son efficacité. Sa disparition obéit à une cinétique de premier ordre ; la constante de vitesse observée et le temps de

*de*mi-vie calculé sont $0,0262 \pm 0,005$ jours⁻¹ et 26 jours respectivement. Le fénamiphos a pu réduire le nombre de nématodes dans le sol sans nuire au développement des microorganismes indispensables pour un rendement optimal des cultures. On peut l'utiliser comme alternatif au bromure de méthyle.

Mots-clés : Fénamiphos, nématodes, organophosphorés, activité respiratoire, sol.

ABSTRACT

Plant parasitic nematodes of different kinds are spread in Lebanon where the fenamiphos is the most used nematicide. This organophosphorus nematicide is also a broad spectrum insecticide. The study consists in evaluating, in closed bio-meters in the laboratory, fenamiphos' aptitude to control nematodes as well as its effect on the soil's global respiratory activity.

The sandy-clay-loam soil used for experimentation was originally from Mastita-Jbeil. The nematodes were extracted from the soil using the Bærmann funnel method, proven to be practical and efficient. To determine fenamiphos residues in different soil samples, an analytical method of extraction was settled using the gas chromatography with a thermo-ionic specific detector.

The experiments proved that fenamiphos was efficient against these microorganisms during the 50 days of incubation. As of the 39th day, an increase of nematodes number surpassing the other samples was observed. Fenamiphos has therefore been transformed in nutrients for soil microorganisms causing its degradation, and thus losing its activity. Its degradation complies with a first order kinetic; the speed constant and the half life measured were 0.0262 ± 0.005 days⁻¹ and 26 days respectively. Consequently, fenamiphos was shown able to reduce the rate of nematodes in soil without harming microorganism development which is essential for the optimal yield of the plants. It can be used as a substitute to methyl bromide.

Key words : Fenamiphos, nematodes, organophosphorus, respiratory activity, soil.

INTRODUCTION

Les nématodes sont des principaux parasites de plusieurs cultures (ACTA, 1971 ; Luc *et al.*, 1990 ; Agrios, 1997). Il s'agit d'un des problèmes sanitaires

majeurs auxquels fait face l'agriculteur. A défaut des statistiques, il est difficile de chiffrer les pertes que les nématodes causent à l'agriculture libanaise. Des interventions nématicides, très coûteuses, s'avèrent être nécessaires, pour éviter leurs dommages et obtenir un bon rendement et une récolte saine. Le bromure de méthyle est la méthode de lutte la plus utilisée au Liban mais celui-ci cause 5 à 15 % de la destruction de la couche d'ozone (EPA, 2000). Le Ministère de L'Environnement libanais a testé plusieurs alternatifs au bromure de méthyle dont des produits non chimiques tels que la solarisation et la biofumigation et des produits non chimiques tels que l'oxamyl, le cadusaphos et le fénamiphos.

Le fénamiphos, nématicide organophosphoré et insecticide à large spectre est le plus utilisé au Liban. Ses grandes applications jusqu'en 2001 posent un problème pour le Liban. C'est ainsi nous nous sommes intéressés, au cours de la présente investigation, d'évaluer dans des biomètres clos au laboratoire son effet contre les nématodes et sur l'activité respiratoire globale du sol. La détermination du temps de demi-vie de ce nématicide a aussi été étudiée par la méthode de la chromatographie en phase gazeuse.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Choix du sol

L'étude expérimentale a été menée sur des échantillons prélevés dans les 20 premiers centimètres d'un sol sablo-argilo-limoneux de Mastita-Jbeil, infesté par les nématodes à galles des racines, c'est à dire de la zone racinaire, riche en nutriment et par suite abondante en nématodes phytoparasites.

Dispositif expérimental

Le sol tamisé à 2 mm a été réparti dans des biomètres clos en verre et incubé durant 50 jours au laboratoire (Fig. 1). Chaque bocal a été additionné d'un petit flacon contenant le NaOH pour piéger le CO₂ indicateur de l'activité microbienne et aussi d'un autre flacon d'eau qui conserve l'humidité ambiante du bocal. Le changement des flacons de NaOH a été effectué tous les 3 à 5 jours. Le NaOH a été titré par une solution de HCl, additionné de phénolphtaléine et de BaCl₂ permettant d'identifier la quantité de CO₂ dégagée dans le bocal. Les différentes modalités étudiées étaient :

Modalité 1 : nématodes + eau de robinet

Modalité 2 : fénamiphos + eau distillée

Modalité 3 : nématodes + fénamiphos

Modalité 4 : Témoin A (eau distillée)

Modalité 5 : Témoin B (solution de nématodes bouillie)

Tous les échantillons du sol (avec 3 répétitions) ont été humidifiés et ramenés à 80% de sa capacité au champ (pour une activité optimale des nématodes et des microorganismes du sol), par une solution d'extrait de racines contenant des nématodes à galles des racines de 1050 nématodes par bocal et 1,06 mg de fénamiphos par bocal selon les modalités.

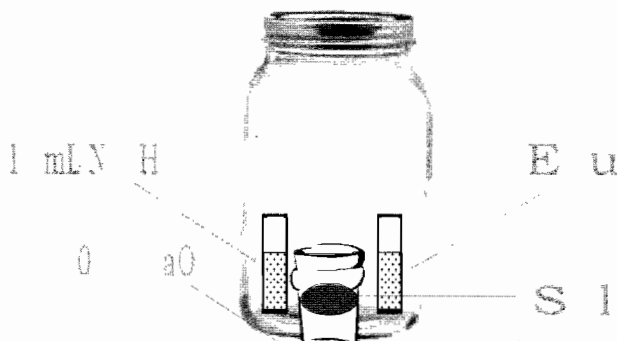


Figure 1. Dispositif expérimental de l'expérience.

Extraction des nématodes

Pour l'extraction des nématodes, trois méthodes ont été testées : méthode de l'entonnoir de Bærmann, méthode de tamisage de Cobb et méthode de centrifugation-flottation (Dalmasso, 1966 ; Taylor et Sasser, 1978). C'est la méthode de l'entonnoir de Bærmann qui a été adoptée, parce qu'elle est la plus rapide et la plus efficace. Elle est basée sur le principe de mouvement des nématodes. Le dispositif a été muni d'un entonnoir et d'un tuyau en caoutchouc bouché par une pince comme l'indique la figure 2.

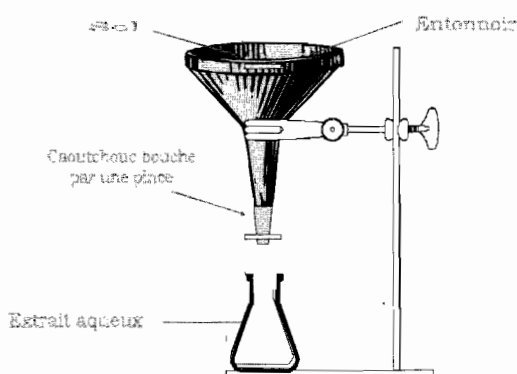


Figure 2. Entonnoir de Bærmann.

Comptage des nématodes

Les extraits aqueux obtenus à partir du sol après 48 heures d'immersion, ont été bien homogénéisés avant le comptage des nématodes. Celui-ci a été effectué sur trois prélèvements de la solution aqueuse d'une aliquote de 2 ml sur une lame de comptage transparente quadrillée. Le résultat est exprimé en nombre de nématodes par gramme de sol. Il est important de noter que la plupart des juvéniles de nématodes incorporés au sol ont été retrouvés dans le volume de l'extrait du sol, au temps zéro même après trois jours d'incubation. Le rendement d'extraction a été donc supérieur à 86%. Pour valider la méthode, le rendement doit être compris entre 70 et 110%. Comme c'est le cas, la méthode d'extraction est validée (Tab. 1).

Tableau 1 : Nombre de nématodes dans le sol inoculé et non inoculé après extraction au temps zéro.

	Sol non inoculé	Sol inoculé
Nombre de nématodes / g de sol au temps zéro	2,31	10,586

Extraction et dosage du pesticide

Les sols ont été gardés à -20°C dans un congélateur (Kuperman et Carreiro, 1997 ; Johansson *et al.*, 1998) jusqu'à extraction. Cette procédure préserve la biomasse microbienne du sol et l'activité potentielle effective (Johansson *et al.*, 1998). Les sols sont mis au réfrigérateur (4°C) entre les manipulations (Kuperman et Carreiro, 1997). Les échantillons de sol sont décongelés 24 heures avant l'analyse, puis homogénéisés par retournement avec une spatule. Dans des flacons en verre munis de bouchons, 10 ml d'acétone sont ajoutés sur 2 g de chacun des différents échantillons de sol. Le taux de récupération du fénamiphos obtenu avec l'acétone est de 95,83%. Les échantillons sont alors agités énergiquement et mécaniquement pendant 10 min ($1800 \text{ trs.min}^{-1}$) puis centrifugés pour 6 min ($4000 \text{ trs.min}^{-1}$). Le surnageant prélevé est évaporé à sec. Le résidu est alors repris avec 1 ml d'hexane pour injection dans le chromatographe à phase gazeuse.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Suivi du nombre des nématodes

Les nématodes n'ont pas pu se développer dans un sol sans inoculation de solution de nématodes (Témoin A), probablement dû à l'absence des exsudats racinaires nécessaires à l'accomplissement du cycle de nématode. Tandis que la matière nutritive ajoutée avec la solution de nématodes (modalité 1), a suffi pour le maintien des nématodes ajoutés à la solution mais dont le développement n'a pas été entretenu tout au long de l'expérience. Par contre en ajoutant une solution inerte (seulement nutritive sans nématodes, Témoin B), un cumul de nématodes autochtones, traduit par un développement élevé et rapide des nématodes, a été provoqué après 10 jours d'incubation, délai de ponte-éclosion à 28°C cité dans Agrios (1997). L'abondance en matière nutritive dans le milieu a fait apparaître le stade juvénile 2 (J_2) des nématodes présents dans le sol. L'extrait des racines a pu modifier et stimuler l'éclosion des œufs. Par contre, une chute raide du nombre de nématodes est observée au cours du 17^{ème} jour certainement à cause de l'insuffisance du milieu en nutriments épuisés par le grand nombre de nématodes les jours précédents. Le développement n'a plus été prononcé après le 17^{ème} jour. Par conséquence, la matière nutritive joue un rôle majeur dans la prolifération des nématodes. Concernant le sol inoculé et traité par le fénamiphos (modalité 3), le taux de nématodes a baissé remarquablement durant les 39 jours, pour reprendre un développement intense après, ce qui

prouve que le fénamiphos était efficace contre les nématodes tout au long de cette période en réprimant leur développement. Cependant, au 39^{ème} jour, le nombre de nématodes commence à augmenter progressivement jusqu'au 49^{ème} jour. Une perte de l'efficacité du fénamiphos serait une cause de cette augmentation des nématodes. L'agriculteur a dû utiliser le fénamiphos (ou un autre organophosphoré) dans son sol car au lieu d'avoir une minéralisation lente du fénamiphos en CO₂, comme c'est le cas d'après Ou et Rao (1986) dans un sol vierge, une dégradation accélérée a eu lieu. Cette application daterait de 3 ans au maximum, puisque les microorganismes responsables de la dégradation du fénamiphos persistent dans le sol pour environ 3 ans après que le nématicide a met de comparer l'évolution du nombre de nématodes des différentes modalités étudiées.

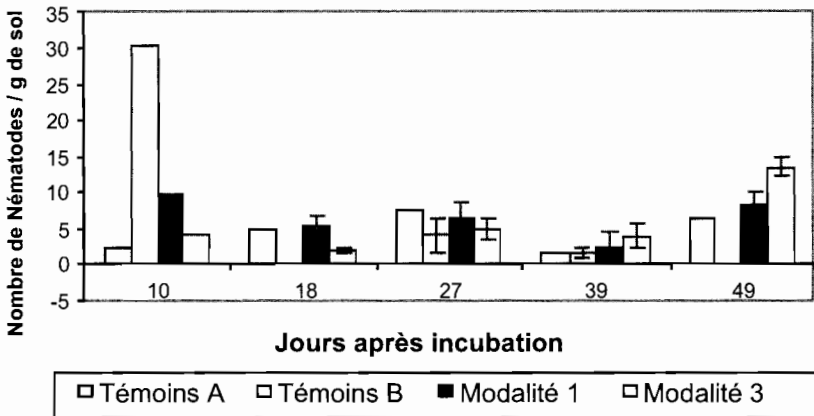


Figure 3. Comparaison du nombre de nématodes des différentes modalités.

Suivi du dégagement de CO₂

Concernant le dégagement du dioxyde de carbone, le sol non inoculé (modalité 2) mais traité de fénamiphos, est sujet d'un dégagement nettement supérieur à celui du sol non traité mais inoculé (témoin A) au 3^{ème} jour d'incubation. Pour expliquer ce fait, nous pouvons dire que la source de nutriments des microorganismes a été puisée dans le fénamiphos lui-même, leur fournissant une source de carbone produisant ainsi un dégagement plus élevé de dioxyde de carbone. De même, le sol inoculé avec du fénamiphos dans la modalité 3 est sujet à une respiration encore supérieure que dans la modalité 2 car les nématodes additionnés ont joué un rôle dans la respiration (Fig. 4). Cette respiration

dans la modalité 3 baisse à partir du 6^{ème} jour pour être légèrement inférieure à la modalité 2 qui n'a pas subi l'inoculation. Le stockage au laboratoire pour 90 jours environ, n'a pas eu d'effet sur la microflore tellurique qui a dégradé le fénamiphos. Cette dégradation est assez rapide suggérant une microflore à structure enzymatique adaptée à la dégradation du fénamiphos. L'agriculteur a dû utiliser le fénamiphos (ou un autre organophosphoré) dans son sol car au lieu d'avoir une minéralisation lente du fénamiphos en CO₂, comme c'est le cas d'après Ou et Rao (1986) dans un sol vierge, une dégradation accélérée a eu lieu. Cette application daterait de 3 ans au maximum, puisque les microorganismes responsables de la dégradation du fénamiphos persistent dans le sol pour environ 3 ans après que le nématicide ait été appliqué (Sterling *et al.*, 1992 ; Ou, 1991).

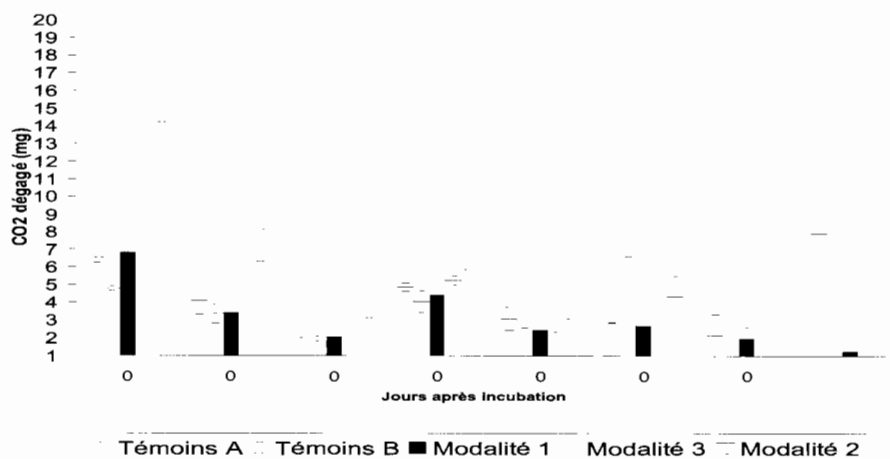


Figure 4. Comparaison du dégagement de CO₂ selon les modalités tout au long de la durée d'incubation.

Dégradation du fénamiphos

La dégradation du fénamiphos a été suivie en fonction du temps. Sa disparition obéit à une cinétique de premier ordre ; la constante de vitesse observée et le temps de demi-vie calculé sont respectivement $0,0262 \pm 0,005 \text{ jours}^{-1}$ et 26 jours. Cette demi-vie courte montre une dégradation rapide du fénamiphos. Des demi-vies de 50 jours (à 30°C et à pH 7), de 220 jours (à 30°C et à pH 9) ont été signalées par Agritox (2001). Notre sol, ayant une demi-vie nettement inférieure

aux références, nous pouvons dire selon Smelt *et al.*, (1996), qu'il a été traité préalablement par le fénamiphos.

La dose d'application sur le sol est de 21,31 mg de matière active par kg de sol. Seulement 70% ($14,96 \text{ mg.kg}^{-1}$) du produit appliqué dans le sol ont été détectés une heure après application, ceci est, en partie, relié aux propriétés d'adsorption et de désorption de ce dernier et aussi à cause des quantités inextrac-tibles avec la technique utilisée au laboratoire. Le premier jour après application, 26,14% du nématicide ont disparu et une concentration $11,05 \text{ mg.kg}^{-1}$ a été trou-vée. Le 5^{ème} jour, une concentration de 9 mg.kg^{-1} a été détectée. Cependant, à par-tir du 10^{ème} jour ($7,40 \text{ mg.kg}^{-1}$), la dégradation commence à se stabiliser. Le taux retrouvé est de $5,26 \text{ mg.kg}^{-1}$ le 21^{ème} jour, puis $5,11 \text{ mg.kg}^{-1}$ le 32^{ème} jour et enfin, le 4^{ème} jour après le traitement, la quantité détectée est de $4,36 \text{ mg.kg}^{-1}$ ce qui équivaut à une diminution de la quantité de fénamiphos de 70,85% (Fig. 5).

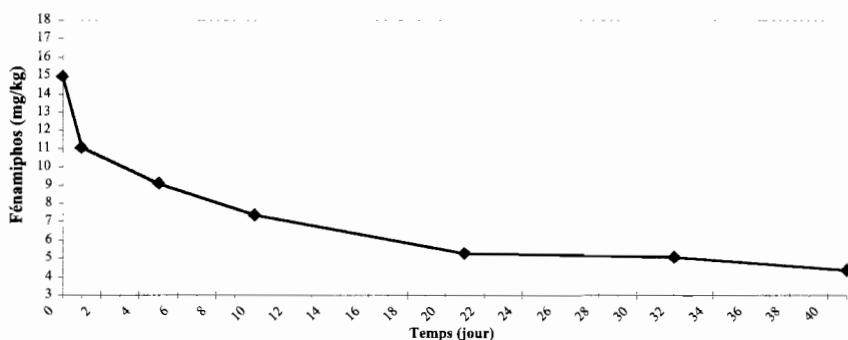


Figure 5. Dégradation du fénamiphos ($21,306 \text{ mg.kg}^{-1}$) dans les échantillons de sol (modalité 2).

CONCLUSION

Le fénamiphos s'est avéré efficace dans la lutte chimique contre les néma-todes. Son action a été observée tout au long de la durée d'incubation puisque le nombre de nématodes a été toujours inférieur aux autres modalités, non traités par ce nématicide, notamment les témoins. Il faut noter qu'à partir du 39^{ème} jour, son action a diminué provoquant une augmentation du nombre de nématodes jusqu'à un taux supérieur aux autres modalités, cela suggère que le fénamiphos

dégradé s'est transformé en nutriments pour les microorganismes du sol. Cette dégradation s'est effectuée dès le début de l'incubation et rapidement jusqu'au 10^{ème} jour pour se stabiliser après. Ce sont les bactéries du sol qui ont minéralisé le fénamiphos. Nous pouvons ainsi dire que le fénamiphos est efficace contre les nématodes ; il réduit leur nombre dans le sol sans toutefois nuire au développement des microorganismes du sol indispensables pour un rendement optimal des cultures. Il constitue par ce fait un bon alternatif au bromure de méthyle, puisqu'il conserve l'intégrité de l'écosystème et protège la couche d'ozone. L'agriculteur bénéficiera de la bonne durée agronomique du fénamiphos mais devra se fier à la fréquence d'utilisation et aux concentrations inscrites sur l'emballage. Il devrait savoir qu'il n'est pas fatal si le taux de nématodes n'est pas tout à fait nul dans le sol, l'important c'est une décroissance du nombre de nématodes de façon qui ne nuirait pas au bon développement des cultures.

Les techniques développées et décrites dans ce mémoire peuvent être un outil utile qui tend à trouver les réponses à plusieurs questions susmentionnées. Au temps actuel, le contrôle et la lutte biologique ne peuvent pas être appliqués avec succès dans les conditions climatiques sous serre. Le traitement avec des plantes ou des parties des plantes comme les graines est très difficile car le matériel végétal présente une tolérance suffisante et très proche du degré nécessaire pour tuer les nématodes. Plusieurs types des nématodes phytoparasites sont déjà largement répandus au Liban. Par suite, la lutte chimique, la plus répandue au Liban, malgré tous ces effets nocifs sur l'environnement est désormais la plus rapide et efficace. La compréhension des procédés environnementaux qui influencent le mouvement du fénamiphos et leur dégradation, pourrait améliorer l'efficacité et la sûreté du pesticide et baisser ainsi le potentiel de contamination des eaux souterraines.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ACTA, 1971. Les nématodes des cultures. Journées françaises d'études et d'information, 828.
- AGRIOS, G. N., 1997. Plant pathology, 4th Edition Academic Press, 565-577.
- AGRITOX, 2001. Base de données sur les substances actives phytopharmaceutiques : Phénamiphos / Bayer.
- DALMASSO, A., 1966. Méthode simple d'extraction des nématodes du sol. *Revue d'Ecologie et de Biologie du Sol*, 3:473-478.
- EPA, 2000. [www.epa.gov http://www.epa.gov/docs/ozone/mbr/mbrqa.html](http://www.epa.gov/docs/ozone/mbr/mbrqa.html)
- JOHANSSON, M., PELL, M. et STENSTRÖM, J., 1998. Kinetics of substrate-induced respiration (SIR) and denitrification: Application to a soil amended with silver. *Ambio* 27(1). Royal Swedish Academy of Sciences 1998. <http://.ambio.kva.se>
- KUPERMAN, R. G. et CARREIRO, M. M., 1997. Soil heavy metal concentrations, microbial biomass and enzyme activities in a contaminated grassland ecosystem. *Soil Biology and Biochemistry*, 29 (2):179-190.
- LUC, M., BRIDGE, J. et SIKORA, A., 1990. Plant parasitic nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture (eds). CAB International, 692.
- OU, L.-T., 1991. Interactions of microorganisms and soil during fenamiphos degradation. *Soil Science Society of American Journal*, 55:716-722.
- OU, L.-T. et Rao, P. S. C., 1986. Degradation and metabolism of oxamyl and fenamiphos in soils. *Journal of Environmental Science and Health*, B21(1):25-40.
- SMELT, J. H., VAN DE PEPPEL-GROEN, A. E., VAN DER PAS, L. J. T. et DIJKSTERHUIS, A., 1996. Development and duration of accelerated degradation of nematicides in different soils. *Soil Biology and Biochemistry* 28(12):1757-1765.
- STIRLING, A. M., STIRLING, G. R. et MACRAE, I. C., 1992. Microbial degradation of fenamiphos after repeated application to a tomato-growing soil. *Nematologica*, 38:245-254.
- TAYLOR, A. L. et SASSER, J. N., 1978. Biology, identification and control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species). North Carolina State University Graphics, 111.